



论文

高寒矮嵩草(*Kobresia humilis*)草甸植物吸收土壤氮素的多元化途径研究王文颖^{①*}, 马永贵^①, 徐进^③, 王慧春^①, 朱锦福^①, 周华坤^②^① 青海师范大学环境与资源教育部重点实验室, 西宁 810008;^② 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008;^③ 中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心, 石家庄 050021

* E-mail: wangwy0106@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-08-05; 接受日期: 2012-02-20

国家自然科学基金(批准号: 30660120)、国家重点基础研究发展计划项目(编号: 2009CB421102)和青海省科技厅国际合作项目(编号: 2010-H-809)资助

摘要 以高寒矮嵩草草甸为研究对象, 利用 ^{15}N 同位素标记技术, 野外原位定量研究高寒矮嵩草草甸主要植物对土壤有机氮(氨基酸)和无机氮(铵态氮和硝态氮)的吸收, 检验群落中主要植物种在土壤氮素资源吸收过程中产生生态位分化的程度, 探讨了高寒草甸豆科植物共生固氮量对草甸地上氮含量的贡献率. 结果表明: 1) 高寒矮嵩草草甸 13 种主要植物地上部分 $\delta^{15}\text{N}$ 天然丰度值为 -2.680‰ ~ 5.169‰ , 差异范围在 7.849‰ 内. 2) 矮嵩草草甸除豆科植物花苜蓿、异叶米口袋和黄花棘豆, 还有龙胆科植物麻花艽对施加的各类 ^{15}N 化合物吸收值均较低. 3) 高寒矮嵩草草甸中吸收有机氮能力最强的植物分别是: 早熟禾、矮嵩草和尖叶龙胆, 它们吸收的氮中有 37%~40% 来源于有机氮. 吸收硝态氮能力最强的植物是异针茅, 它吸收的氮中 60% 来源于硝态氮. 而对铵态氮吸收值相对较高的植物分别是: 鹅绒委陵菜、早熟禾和高山唐松草(吸收的铵态氮占总吸收氮量的 25%~27%). 4) 矮嵩草草甸豆科植物共生固氮量对地上部分氮含量的贡献率是 7.48%~9.26%. 5) 上述结果证实: 高寒草甸有多种植物可以有效利用可溶性有机氮源特别是氨基酸, 而且不同的植物种之间在氮素吸收上存在多样化特点. 借此可以解释在速效氮为限制因子的高寒草甸生境中, 为什么能形成丰富的物种多样性, 植物又是如何高效利用限制性氮资源的.

关键词高寒矮嵩草草甸
 ^{15}N 示踪技术
植物有机营养
土壤氮素

自从李比希(Liebig)1840 年创立矿质营养学说以来, 人们一直认为植物只能吸收无机态氮而不能吸收有机态氮, 土壤中的有机态氮必须经土壤微生物矿化为无机态氮后植物才能吸收. 因此对土壤氮矿化和植物对无机态氮的吸收等方面作了大量研究工

作. 然而, 人们通过多年的研究观察到这样一个事实: 在高寒草地、苔原及北方森林生态系统, 植物每年摄取的氮量远高于土壤氮净矿化量^[1~4]. 这就表明在这些地区除土壤无机氮外还有其他氮源在植物的氮素营养中占有重要地位. Chapin 等^[5]的研究第一次证明

非菌根维管植物嗜好吸收和利用有机氮, 生长在苔原的莎草科植物白毛羊胡子草 (*Eriophorum vaginatum*) 可以迅速吸收游离氨基酸, 所吸收氮的 60% 来自游离氨基酸, 而生长在矿质土的谷物(对照组)在氨基酸培养液中生长状况较差. 此后随着研究手段的改进和研究内容的不断深入, 极地苔原、高寒植被和北方森林植物也有了这方面的报道^[6-19]. 植物营养中有机氮的重要性在一些生态系统中得以证实, 许多没有菌根的维管植物都可以有效地直接吸收可溶性有机态氮, 特别是小分子的氨基酸. 由此可见, 植物在获取氮素营养中的多元化是对目前陆地氮循环理解的一种挑战^[12,18].

营养和能量是生命系统的两大支柱, 对自然种群而言, 营养作为种间竞争利用的资源, 很大程度上支配了种群的行为. 另一方面, 不同的植物在吸收利用环境中的营养时并非以相同的机制进行, 某些种群具有特殊的能力吸收环境中的营养. 在研究不同种群的营养竞争时, 不能简单地把营养看作是一种对所有种群都同等有效的资源. McKane 等^[19]指出, 生长在氮作为限制因子的北极苔原群落的物种, 在吸收氮的时间、深度或化学形态上产生分化而共存, 资源生态位分化减少了植物对土壤氮的竞争, 物种的优势度与可利用氮形态的吸收之间呈显著正相关, 即最高产的物种利用最丰富的氮形态, 首次提出一个植物群落物种组成与有限资源不同利用形式划分有关. Nadelhoffer 等^[20]研究了美国阿拉斯加苔原植物 ^{15}N 的自然丰度, 结果表明, 苔原植物叶片中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值差异范围可达 10%. 他们认为在氮素为限制植物生长因子的生境中, 植物具有不同途径竞争和获得限制元素的机制, 从而使多物种共存, 形成苔原系统中丰富的生物多样性. 同样, 群落中共同生活的物种占据分化的生态位, 从而提高系统对土壤有限资源如氮和磷利用的效率. 由此引起了人们对植物有机营养和植物营养方式多样化问题的重视.

高寒矮嵩草草甸 (*Kobresia humilis* Alpine Meadow) 是由寒冷中生多年生密丛短根茎嵩草属植物为优势种所形成的一种植被类型. 高寒草甸动、植物种类组成, 微生物的分解作用, 牧业特点以及能量流动和物质循环等均与低海拔草地类型有明显的差异. 高寒草甸氮素的传输过程与植被和土壤的发生

和发展紧密联系, 显著影响着高寒草甸生态系统的结构和功能. 高寒草甸土壤中氮素总储量为 10.63 t hm^{-2} , 土壤中 95% 以上的氮是以有机态氮形态出现, 无机氮 ($\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$) 仅占土壤全氮的 1% 左右^[21]. 土壤中有有机态氮主要以酸解态氮为主 (占土壤全氮的 69.90%~82.10%), 酸解氮主要由高分子有机化合物、蛋白质和多肽等物质组成. 其中, 氨基酸态氮占 30.00%, 氨态氮占 19.00%, 未知态氮占 29.00% 左右, 有机态氮随土层加深而减少^[22]. 目前, 我们在高寒草甸草地生产力形成机理和土壤矿化过程等方面做了比较多的研究工作, 但对氮循环中 NH_4^+ 生产之前的过程以及高寒植物对土壤有机氮营养多样化或偏好方面的知识知之甚少, 而这部分内容是评估高寒草甸生态系统氮循环中不可缺少的一个组分.

因此, 本研究以典型高寒矮嵩草草甸为研究对象, 利用 ^{15}N 同位素标记技术, 原位定量研究高寒草甸优势牧草对土壤有机氮(氨基酸)和无机氮(铵态氮和硝态氮)的吸收, 检验群落中主要牧草在氮素资源吸收过程中产生生态位分化的程度, 揭示高寒牧草有机营养特征, 加深对陆地高寒草甸生态系统氮循环的理解, 为青藏高原高寒草甸生态系统物种多样性维持机制和可持续发展模式提供科学依据.

1 研究地区自然地理概况

实验样地选择在中国科学院海北高寒草甸生态系统开放实验站(以下简称定位站)进行, 该站地处 $37^\circ 29' \sim 37^\circ 45' \text{N}$, $101^\circ 12' \sim 101^\circ 23' \text{E}$ 之间, 站区平均海拔 3200 m. 年平均气温为 -1.7°C , 1957~2000 年间年降水量为 426~860 mm, 其中 80% 的降水集中在植物生长季. 植被类型主要有: 以矮嵩草为建群种的高寒矮嵩草草甸, 分布在地阳坡和滩地; 以金露梅 (*Potentilla fruticosa*) 为建群种的高寒灌丛, 分布于山地阴坡、山麓及河谷低地; 以藏嵩草 (*Kobresia tibetica*) 为建群种的沼泽草甸, 分布于河滩地. 相对应的土壤类型分别为高山草甸土、高山灌丛草甸土和沼泽土. 土壤特点为发育年轻, 土层薄, 具有 10~15 cm 厚的坚韧的草皮层, 土壤有机质含量高, 土壤总氮、总磷和钾的储量较丰富. 由于矿化作用弱, 营养物质缺乏, 特别是速效氮和速效磷缺乏.

2 材料和方法

2.1 样地设置

本研究以高寒矮嵩草草甸为研究对象. 在矮嵩草草甸上随机设置了 8 个 ^{15}N 处理样地, 即 4 种 ^{15}N 标记的化合物, 包括 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ ($^{15}\text{N}\text{-NH}_4^+$), K^{15}NO_3 ($^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$), ^{15}N -标记的甘氨酸($^{15}\text{N}\text{-Gly}$)和天冬氨酸($^{15}\text{N}\text{-Asp}$), 每个处理 2 个重复, 共 $4 \times 2 = 8$ 个处理样地. 各样地间距至少 2 m, 每个样地样方大小为 $96\text{ cm} \times 96\text{ cm}$, 注射 ^{15}N 标记的 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$, K^{15}NO_3 , 甘氨酸和天冬氨酸溶液(^{15}N 浓度均为 11 mol L^{-1} , 98%丰度), 每个样地 289 个注射点, 注射点用 $6\text{ cm} \times 6\text{ cm}$ 的网格固定, 在每个网格交叉点用注射器注射 2 mL 溶液到土壤 5 cm 深度处, 这样每个处理样地传递了 $103.455\text{ mg } ^{15}\text{N m}^{-2}$ (图 1).

2.2 取样及分析

^{15}N 注射 48 小时后, 矮嵩草草甸选择了标记区的草地早熟禾(*Poa pratensis*)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、异针茅(*Stipa aliena*)、矮嵩草、雪白委陵菜(*Potentilla saundersiana*)、鹅绒委陵菜(*Potentilla anserina*)、异叶米口袋(*Gueldenstaedtia diversifolia*)、黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala*)、花苜蓿(*Trigonella ruthenica*)、麻花苳(*Gentiana straminea*)和尖叶龙胆(*Gentiana aristata*)等, 从样地中心 $90\text{ cm} \times 90\text{ cm}$ 的区域随机取每种植物地上组织样品. 另外每种植物在注射前一天选对照植株取样分析背景氮含量和自然 $\delta^{15}\text{N}$ 丰度. 植物样品 80°C 烘干、研磨, 用元素分析仪(Flash EA 1112HT)-同位素质谱仪(Finnigan MAT

Delta V advantage)分析对照和标记植物地上组织原子 R 值(样品中 ^{15}N 与 ^{14}N 同位素比率)和氮含量(g kg^{-1})(在中国林业科学研究院林业研究所稳定同位素比率质谱实验室完成). 同时在每个样地选 5 个 $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ 的样方测定每个植物种的地上生物量.

2.3 计算与统计分析

本研究利用稳定氮同位素示踪法测定植物种对不同氮化合物的吸收值. 稳定氮同位素示踪是指利用 ^{15}N 自然丰度变异对氮元素演变的自然环境进行反演, 或利用其原位标记的特性对含氮物质的运动规律进行示踪的方法. 常用的示踪方法有 ^{15}N 自然丰度法和 ^{15}N 稀释法两种. 前者通常以大气的氮同位素组成为标准, 用示踪原子的变异系数(δ)来表示:

$$\delta^{15}\text{N}(\text{‰, air}) = (R_p/R_a - 1) \times 1000, \quad (1)$$

式(1)中, R_p 和 R_a 分别为样品和空气的 ^{15}N 与 ^{14}N 的原子数之比.

N 稀释法则以 ^{15}N 的原子百分超(A)来表示:

$$A = 100[n_{15}/(n_{15} + n_{14})] = 100[R_p/(R_p + 1)], \quad (2)$$

式(2)中, n_{14} 和 n_{15} 分别代表样品中 ^{14}N 和 ^{15}N 的原子百分数.

$$^{15}\text{N} \text{ 吸收值} = [T(A_S - A_B)]/A_F, \quad (3)$$

式(3)中, T 为样品氮浓度(g kg^{-1}), A_S 为标记样品 ^{15}N 原子百分超, A_B 为背景(未标记样品) ^{15}N 原子百分超, A_F 为示踪剂原子百分超.

本研究应用 ^{15}N 同位素稀释法测定豆科植物从空气中固定氮的量. 基本原理是将一定丰度的 ^{15}N 标记物施加到既有固氮植物也有参照植物(非固氮植物)生长的微区内, 因固氮植物要从空气中固定一定比



图 1 高寒矮嵩草草甸 ^{15}N 注射实验样地

例的 N_2 , 故微区内生长的固氮植物和非固氮植物吸收的 ^{15}N 就有了一定的差异, 据此来计算生物固氮对固氮植物氮素营养的贡献百分比(%N ysm):

$$\%N\ ysm = (1 - \text{豆科植物 } ^{15}N \text{ 原子百分超} / \text{参照植物 } ^{15}N \text{ 原子百分超}) \times 100, \quad (4)$$

$$N_{\text{fixed}} = N_t \times \%N\ ysm, \quad (5)$$

式中, %N ysm 为豆科植物固氮百分率, N_t 为单位面积植物氮含量(mg N m^{-2}), N_{fixed} 为豆科植物单位面积固氮量。

用一元方差分析(one-way ANOVA, LSD)和 t 检验比较不同处理间各参数差异显著性; 统计分析均在 Excel 2003 和 SPSS 11.0 统计软件上完成。

3 结果与分析

3.1 高寒矮嵩草草甸主要植物种地上组织氮浓度及 $\delta^{15}N$ 自然丰度值

以定位站矮嵩草草甸 13 种主要植物种为研究对象, 分析了生长旺盛期(7 月中旬)各物种地上组织氮浓度和 $\delta^{15}N$ 自然丰度值。结果表明, 高寒矮嵩草草甸莎草科和禾本科植物地上组织氮浓度最低, 如矮嵩草、垂穗披碱草、异针茅和早熟禾氮浓度分别为 17.82, 17.16, 18.59 和 17.91 g kg^{-1} ; 豆科植物地上组织氮浓度显著高于其他植物种, 如黄花棘豆、花苜蓿和异叶米口袋的氮浓度分别达到 38.65, 45.09 和 42.00 g kg^{-1} , 氮浓度为禾本科和莎草科植物的两倍多。其他双子叶杂类草植物氮浓度居中, 地上组织氮浓度为 17.38~27.13 g kg^{-1} 。

矮嵩草草甸主要的 13 种植物地上组织 $\delta^{15}N$ 自然丰度结果见表 1。结果表明, 高寒草甸植物茎叶中 $\delta^{15}N$ 值的范围在 -2.680‰ ~ 5.169‰ , 差异范围为 7.849‰。现有的研究表明, 不同植物间植物氮同位素组成差异较大, 热带雨林生态系统植物叶片的 $\delta^{15}N$ 值以正值为特征, 可以达到 10‰~15‰, 而在土壤氮素为限制因子的生态系统中植物叶片 $\delta^{15}N$ 值以负值为特征, 不超过 -2‰ ~ -3‰ 。并且植物的氮同位素组成通常与该植物生长的土壤氮同位素组成有差异, 植物中 ^{15}N 同位素浓度通常比土壤的低且变化较大, 但目前还没有足够的实验数据来解释其原因。目前仅知道植物中氮同位素的组成($^{15}N/^{14}N$ 比率)受多个因素影响, 最主要的影响因素是: 1) 植物吸收的含氮化合物(大气 N_2 , 土壤铵态氮, 硝态氮和有机氮)同位素组成的差异; 2) 植物在氮化合物吸收和同化过程中发生的分馏; 3) 植物的菌根种类^[23]。

3.2 矮嵩草草甸不同植物吸收不同形态氮化化合物的能力

以植物地上组织氮浓度和植物样 ^{15}N 原子百分超为基础分别计算每种植物对 ^{15}N 标记的甘氨酸、硝酸钾、氯化铵和天冬氨酸的吸收值, 检验高寒草甸不同植物种对不同氮形态的吸收能力(表 2)。结果表明, 整体而言各类植物对 4 种氮形态的吸收能力存在显著差异。早熟禾除了对 $^{15}N\text{-Asp}$ 的吸收值较低外, 对 $^{15}N\text{-Gly}$, $^{15}N\text{-NO}_3^-$ 和 $^{15}N\text{-NH}_4^+$ 三种氮形态的吸收值是矮嵩草草甸中最高的, 分别达到 2.520, 2.753 和 1.952 $\mu\text{mol } ^{15}N \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ (干重)。反之, 矮嵩草草甸豆科植物

表 1 高寒矮嵩草草甸主要植物地上组织氮浓度与 $\delta^{15}N$ 自然丰度值

植物种	地上组织氮浓度(g kg^{-1})	$\delta^{15}N$ 自然丰度值(‰)
矮嵩草 <i>Kobresia humilis</i>	17.82	0.289
垂穗披碱草 <i>Elymus nutans</i>	17.16	-0.938
异针茅 <i>Stipa aliena</i>	18.59	-0.921
草地早熟禾 <i>Poa pratensis</i>	17.91	5.169
花苜蓿 <i>Trigonella ruthenica</i>	45.09	-2.466
异叶米口袋 <i>Gueldenstaedtia diversifolia</i>	42.00	-1.837
黄花棘豆 <i>Oxytropis ochrocephala</i>	38.65	0.660
尖叶龙胆 <i>Gentiana aristata</i>	23.95	1.383
高山唐松草 <i>Thalictrum alpinum</i>	27.13	-2.680
鹅绒委陵菜 <i>Potentilla anserina</i>	17.38	0.496
雪白委陵菜 <i>Potentilla saundersiana</i>	21.87	-2.026
麻花艸 <i>Gentiana straminea</i>	19.77	3.898
美丽风毛菊 <i>Saussurea superba</i>	21.04	2.636

表 2 矮嵩草草甸不同植物对不同形态氮标记化合物的平均吸收值(标准误)^{a)}

氮处理 植物种	甘氨酸 Gly	硝酸钾 Nitrate	氯化铵 Ammonium	天冬氨酸 Asp
早熟禾	2.520(0.177)ab 1	2.753(0.272)a 1	1.952(0.187)b 1	0.558(0.124)c 1
垂穗披碱草	0.517(0.107)b 2, 3, 4	1.493(0.195)a 2, 3	0.690(0.093)b 2, 3	0.426(0.095)b 1
异针茅	0.363(0.053)b 3, 4	1.259(0.209)a 2, 3	0.304(0.016)b 3	0.188(0.037)b 2
矮嵩草	0.905(0.359)a 2	1.344(0.371)a 2, 3	0.734(0.009)a 2, 3	0.334(0.068)b 1, 2
雪白委陵菜	0.633(0.006)b 2, 3	1.888(0.181)a 2	0.722(0.238)b 2, 3	0.660(0.094)b 1
鹅绒委陵菜	0.669(0.154)b 2, 3	1.448(0.202)a 2, 3	0.921(0.222)ab 2	0.423(0.125)b 1
尖叶龙胆	0.512(0.146)a 2, 3, 4	1.068(0.275)a 3, 4	0.534(0.000)a 3	0.445(0.109)a 1
高山唐松草	0.682(0.062)b 2, 3	1.876(0.642)a 2	1.097(0.245)b 2	0.644(0.143)b 1
美丽风毛菊	0.803(0.153)b 2	1.511(0.091)a 2, 3	1.306(0.625)ab 1, 2	—
异叶米口袋(豆科)	0.222(0.001)a 4	0.373(0.168)a 4	0.344(0.197)a 3	0.081(0.013)b 2
黄花棘豆(豆科)	0.239(0.171)a 4	0.169(0.027)a 4	0.103(0.027)a 3	0.257(0.117)a 2
花苜蓿(豆科)	0.177(0.011)a 4	0.375(0.078)a 4	0.235(0.030)a 3	0.150(0.018)a 2
麻花苳	0.144(0.024)a 4	0.316(0.055)a 4	0.167(0.006)a 3	0.052(0.016)a 2

a) 不同氮处理间带相同字母的为差异不显著, $P=0.05$; 不同植物种间带相同数字的为差异不显著, $P=0.05$. 单位: $\mu\text{mol } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{DW}$

异叶米口袋、黄花棘豆和花苜蓿对 $^{15}\text{N-Gly}$, $^{15}\text{N-NO}_3^-$, $^{15}\text{N-NH}_4^+$ 和 $^{15}\text{N-Asp}$ 四种氮形态的吸收值均很低, 其吸收范围在 $0.081\sim 0.375 \mu\text{mol } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{DW}$. 豆科牧草对四种氮形态的吸收差异不显著. 此外, 麻花苳这种非豆科植物对四种氮形态的吸收与豆科牧草有相似的特点, 对四种氮源的吸收值仅在 $0.052\sim 0.316 \mu\text{mol } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{DW}$ 之间.

另外, 其他植物种可以分为三大类: 一类以垂穗披碱草、异针茅、雪白委陵菜和高山唐松草为代表, 它们对 $^{15}\text{N-NO}_3^-$ 有明显的吸收偏好, 吸收值显著高于其他氮形态, 同时这些植物种对 $^{15}\text{N-Gly}$, $^{15}\text{N-NH}_4^+$ 和 $^{15}\text{N-Asp}$ 的吸收值差异不显著. 另一类以矮嵩草和尖叶龙胆为代表, 它们对 $^{15}\text{N-Gly}$, $^{15}\text{N-NO}_3^-$ 和 $^{15}\text{N-NH}_4^+$ 三种氮形态的吸收差异不显著, 但对天冬氨酸的吸收值稍低. 而鹅绒委陵菜和美丽风毛菊对 $^{15}\text{N-NO}_3^-$ 和 $^{15}\text{N-NH}_4^+$ 的吸收能力相同, 且对硝态氮的吸收显著高于有机态氮. 另外, 从所有植物对四种氮形态吸收的绝对数值看, 除了豆科植物和麻花苳之外, 所有植物种对硝态氮的吸收值普遍是最高的, 铵态氮和甘氨酸次之, 对天冬氨酸的吸收最低.

总之, 在矮嵩草草甸豆科植物和麻花苳对施加的各类 ^{15}N 化合物吸收值均较低. 早熟禾、矮嵩草和尖叶龙胆三种植物能够吸收硝态氮外, 还可以有效吸收有机氮源甘氨酸. 其次绝大多数植物对硝态氮的吸收值最高, 对硝态氮有明显的吸收偏好. 这些结果显示生长在同一个高寒矮嵩草草甸群落中的不同植物种对氮素的吸收能力存在差异和多元化的特点,

且有些植物种可以有效吸收可溶性有机态氮源尤其是土壤中的氨基酸.

3.3 高寒矮嵩草草甸豆科植物的年固氮能力估算

根据 ^{15}N 同位素稀释法计算豆科植物年固氮能力. 我们以施加 $\text{K}^{15}\text{NO}_3^-$ 或 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$, 且选择矮嵩草草甸优势牧草异针茅、垂穗披碱草或矮嵩草作为参照植物计算豆科牧草的单位面积固氮量(表 3). 结果显示, 在施 $\text{K}^{15}\text{NO}_3^-$ 时, 不管以哪种植物作为参照植物, 豆科牧草的固氮量均比较一致. 如异叶米口袋单位面积固氮量在 $70.51\sim 72.49 \text{ mg N m}^{-2}$ 范围, 黄花棘豆固氮量在 $287.07\sim 291.78 \text{ mg N m}^{-2}$ 范围波动, 花苜蓿在 $164.3\sim 169.14 \text{ mg N m}^{-2}$ 范围. 可以推算: 施 $\text{K}^{15}\text{NO}_3^-$ 时矮嵩草草甸所有豆科牧草地上组织每平方米固定大气的总氮量为 $521.88\sim 533.41 \text{ mg N}$.

但是如果施加 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$, 选择不同的参照植物对计算固氮量有一定的影响. 如异叶米口袋单位面积固氮量分别为 33.44 (异针茅为参照)、 54.03 (垂穗披碱草为参照)和 $59.30 \text{ mg N m}^{-2}$ (矮嵩草为参照). 黄花棘豆固氮量变化幅度为 $284.89\sim 323.46 \text{ mg N m}^{-2}$, 花苜蓿固氮量变化幅度为 $126.40\sim 168.01 \text{ mg N m}^{-2}$. 可以推算: 施 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$ 时矮嵩草草甸所有豆科牧草地上组织每平方米固定大气的总氮量为 $444.73\sim 550.76 \text{ mg N}$.

根据高寒矮嵩草草甸主要植物种地上生物量和氮浓度可以计算出, 该草甸地上部分氮含量为 5.949 g N m^{-2} . 那么豆科植物共生固氮量对地上组织氮含

表 3 在不同参照植物选择和施加不同 ^{15}N 标记物下豆科植物地上固氮量比较(单位: mg N m^{-2})

参照植物 豆科植物	施 $\text{K}^{15}\text{NO}_3^-$			施 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$		
	异针茅	垂穗披碱草	矮嵩草	异针茅	垂穗披碱草	矮嵩草
异叶米口袋	70.51	72.49	70.74	33.44	54.03	59.30
黄花棘豆	287.07	291.78	287.6	284.89	315.6	323.46
花苜蓿	164.3	169.14	164.85	126.40	159.53	168.01
豆科植物总固氮量	521.88	533.41	523.19	444.73	529.16	550.76

量的贡献是 7.48%~9.26%.

4 讨论

4.1 土壤中有机氮的形态

土壤中的含氮有机物主要为蛋白质、多肽、核酸、肽聚糖、几丁质和水溶性的氨基酸、氨基糖和尿素等. 这些物质大多属于不溶性有机氮, 均不能被植物直接吸收利用. 植物根系仅能利用分子量较小的可溶性有机氮(如尿素、氨基酸和多胺等). 氨基酸是该组分的主要组成成分. 因此, 在评估植物可利用氮素研究中, 一般都是将土壤氨基酸库与无机氮库做比较^[18].

土壤氨基酸中仅有一小部分以个体氨基酸的形式溶解在土壤溶液中, 称作“自由氨基酸”. 根据我们测定的结果, 矮嵩草草甸土壤提取液中以苯丙氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、精氨酸、脯氨酸、谷氨酸和甘氨酸为优势自由氨基酸, 它们占总游离氨基酸含量的 70%~90%. 矮嵩草草甸生长季土壤总游离氨基酸态氮平均浓度为 $7.44 \text{ mg N kg}^{-1}$ 干土, 在 $4.50\sim 10.82 \text{ mg N kg}^{-1}$ 范围内变化. 季节动态变化显著, 从 4 月中旬开始土壤总自由氨基酸浓度逐渐上升, 至 5 月底达到最大值(10.82 mg kg^{-1}), 随后逐渐下降至 10 月初达到最低值^[24]. Weintraub^[25]研究湿苔原土壤提取液中游离氨基酸浓度为 $2\sim 8 \text{ mg g}^{-1}$ 干土, 而无机氮浓度仅 $0.5\sim 1.1 \text{ mg g}^{-1}$ 干土. Lipson 和 Nasholm^[12]报道土壤提取液中氨基酸-N 的浓度在 $0.04\sim 24 \mu\text{g N g}^{-1}$ 土壤, 而土壤孔隙水中氨基酸浓度高达 $158 \mu\text{mol L}^{-1}$. Raab 等^[26]指出高山草甸土土壤孔隙水中氨基酸浓度为 $13\sim 158 \mu\text{mol L}^{-1}$, 甘氨酸(中性)为主要成分, 亚高山沼泽地土壤孔隙水中氨基酸浓度为 $15\sim 20 \mu\text{mol L}^{-1}$, 天冬氨酸为主要成分; 这些土壤中的高浓度氨基酸主要来自土壤蛋白酶对土壤蛋白质的水解作用. 尽管土壤提取液和孔隙水中有多种类型的氨基酸, 但通常情况下甘氨酸、天冬氨酸和谷氨酸是土壤溶液中

最常见的氨基酸^[27]. 因此, 土壤甘氨酸和天冬氨酸在植物有机营养中占有重要的地位.

4.2 不同植物种中对土壤中有机氮和无机氮的吸收偏好和能力

Chapin 等^[5]首次报道了苔原植物可以有效地吸收氨基酸, 生长在苔原的莎草科植物白毛羊胡子草可以迅速吸收游离氨基酸, 所吸收氮的 60% 来自游离氨基酸. Kielland^[7]发现生长在北极干性石南灌丛、草丛苔原、灌木苔原和湿草甸 4 个生态系统的维管植物能直接吸收氨基酸, 氨基酸态氮可占植物吸收总氮量的 10%~82%, 但吸收能力因植物种类而异, 同时与氨基酸分子量呈负相关. Raab 等^[26]对 5 个生态系统中 13 种不带菌根的莎草进行了有机氮(甘氨酸)和无机氮(NO_3^- 和 NH_4^+)的吸收试验, 结果发现除一种干燥热带森林莎草不能吸收甘氨酸外, 其余莎草均能吸收甘氨酸; 一种高山莎草不能吸收 NH_4^+ , NO_3^- 的吸收速率也低于氨基酸, 而且高山和亚高山莎草吸收甘氨酸的速率比 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的大. Lipson 等^[28]认为生长在苔原的嵩草(*Kobersia myosuroides*)吸收甘氨酸的能力要强于微生物利用甘氨酸的能力, 甘氨酸可能是苔原莎草生长的特殊有机氮源. 综上所述, 植物吸收的氨基酸占该植物吸收总氮量的 10%~100%, 是由于不同的植物群落和物种组成的差异所致. 另外, 在培养液中研究物种的吸收偏好时, 由于忽略了微生物对氮化合物的竞争, 应该更能反映出物种的基础生态位, 因此基于植物吸收动力模型估计的植物年氨基酸吸收量仅代表该物种每年吸收氨基酸的上界. 而土壤原位试验在竞争性环境中测定植物的氮吸收量, 因此原位测定更能反映出植物种在氮利用中的现实生态位^[19].

我们计算了高寒矮嵩草草甸除豆科植物和麻花苋以外的 8 种植物对硝态氮、铵态氮和有机态氮(甘氨酸和天冬氨酸)吸收值的百分比. 从图 2 可以看出, 这些植物吸收的甘氨酸和天冬氨酸(有机氮)占它们

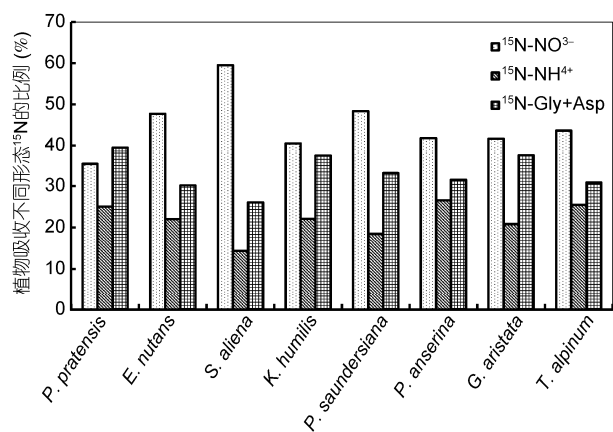


图2 高寒矮嵩草草甸植物吸收硝态氮、铵态氮和有机氮的比例

吸收总氮量的 26%~40%，硝态氮占吸收总氮量的 35%~60%，铵态氮占 14%~27%。

高寒矮嵩草草甸中吸收有机氮能力最强的物种分别是：早熟禾、矮嵩草和尖叶龙胆，它们吸收的氮中有 37%~40%来源于有机氮。矮嵩草草甸中吸收硝态氮能力最强的物种是异针茅，它吸收的氮中 60%来源于硝态氮。其次偏好吸收硝态氮的物种是垂穗披碱草和雪白委陵菜(硝态氮占总吸收氮量的 48%)。而对铵态氮吸收值相对较高的物种分别是：鹅绒委陵菜、早熟禾和高山唐松草(铵态氮占总吸收氮量的 25%~27%)。这些研究结果表明，高寒矮嵩草草甸植物靠吸收氨基酸而超越微生物氮矿化这一步，在高寒草甸生态系统中，有机氮吸收是植物氮预算的重要组成部分。高寒草甸有多种植物可以有效利用土壤可溶性有机氮源如氨基酸，而且不同的植物种之间在氮素吸收上存在多样化特点。这样群落中共同生活的物种占据分化的生态位，不仅减小了种间竞争，而且同时提高了系统对土壤有限资源如氮和磷利用的效率。借此可以解释在速效氮为限制因子的高寒生境中，为什么能形成丰富的物种多样性，植物又是如何高效利用限制性氮资源的。

4.3 高寒矮嵩草草甸植物年固氮能力估算

根据 ^{15}N 同位素稀释法将一定丰度的 ^{15}N 标记物施加到一定面积的草地上，由于固氮植物要从大气中固定一定数量的 N_2 ，所以施加 ^{15}N 标记物的草地生长的固氮和非固氮植物体内吸收的 ^{15}N 数量就有了一定的差异，据此计算固氮植物从大气中固定的氮量。但是这里产生的问题是施加不同的同位素标记物 and 选择不同的参照植物对豆科植物固氮量的估计是否有影响，影响有多大？我们的数据证实，在施 K^{15}NO_3 时，不管以哪种植物作为参照植物，豆科牧草的固氮量均比较一致。但是施加 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$ ，选择不同的参照植物对计算固氮量有一定的影响。如异叶米口袋单位面积固氮量变幅为 $33.44\sim59.30\text{ mg N m}^{-2}$ ，黄花棘豆为 $284.89\sim323.46\text{ mg N m}^{-2}$ ，花苜蓿为 $126.40\sim168.01\text{ mg N m}^{-2}$ 。

另外，我们的数据显示：高寒矮嵩草草甸除豆科植物共生固氮外，还有麻花艽这种植物具有特殊的方式吸收氮素，可能属于非豆科固氮植物。如果这个假设是对的，我们通过计算得知施 K^{15}NO_3 时麻花艽单位面积固氮量为 $801.40\sim839.68\text{ mg N m}^{-2}$ ，施 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$ 麻花艽单位面积固氮量为 $568.62\sim844.28\text{ mg N m}^{-2}$ (表 4)。如果麻花艽也是一种固氮植物，那么矮嵩草草甸地上组织每平方米固定大气的总氮量为 $1013.35\sim1395.04\text{ mg N m}^{-2}$ 。这样在矮嵩草草甸植物共生固氮量对地上部分氮含量的贡献率达到 17.03%~23.45%。一般，未退化的嵩草草甸中麻花艽个体大、叶色深，优势度和竞争力明显^[21]，可能与其特殊高效的氮素利用性能有关。关于麻花艽的固氮过程和机制还有待进一步研究。

从文献资料看，在不同的生态系统中，固氮植物的氮输入量差异较大。如 Jacot 等^[29]综述文献认为生物固氮率的范围从苔原生态系统中不足 $1\text{ g N m}^{-2}\text{ a}^{-1}$ 到种植豆科的农业生态系统中达到 $30\text{ g N m}^{-2}\text{ a}^{-1}$ 。Solheim 等^[30]综述在不同北极和高寒生态系统每年的固氮率是 $19\sim255\text{ mg m}^{-2}\text{ a}^{-1}$ ，平均是 $127\text{ mg m}^{-2}\text{ a}^{-1}$ 。

表 4 在不同参照植物选择和施加不同 ^{15}N 标记物下豆科植物和麻花艽固氮量(单位: mg N m^{-2})

参照植物 豆科植物	施 K^{15}NO_3			施 $^{15}\text{NH}_4^+\text{Cl}$		
	异针茅	垂穗披碱草	矮嵩草	异针茅	垂穗披碱草	矮嵩草
麻花艽固氮量	801.40	839.68	805.78	568.62	788.18	844.28
豆科植物固氮量	521.88	533.41	523.19	444.73	529.16	550.76
总固氮量(包括麻花艽)	1323.28	1373.09	1328.97	1013.35	1317.34	1395.04

Jacot 等^[29]研究阿尔卑斯山不同海拔高度下豆科牧草固氮率, 结果表明, 在海拔 2100 和 2300 m 处, 豆科植物通过大气输入的氮平均是 0.1 g N m^{-2} , 在海拔 900 和 1380 m 平均是 1.8 g N m^{-2} . 随着海拔升高豆科植物固定的氮对地上组织氮含量的贡献由 16% 下降到 9%.

5 结论

高寒矮嵩草草甸植物靠吸收氨基酸而超越微生物氮矿化这一步, 在高寒草甸生态系统中, 有机氮吸收是植物氮预算的重要组成成分. 高寒矮嵩草草甸有多种植物可以有效利用土壤可溶性有机氮源如氨基酸, 而且不同的植物种之间在氮素吸收上存在多

样化特点. 高寒矮嵩草草甸中吸收有机氮能力最强的植物分别是: 早熟禾、矮嵩草和尖叶龙胆, 它们吸收的氮中有 37%~40% 来源于有机氮. 吸收硝态氮能力最强的植物是异针茅, 它吸收的氮中 60% 来源于硝态氮. 而对铵态氮吸收值相对较高的植物分别是: 鹅绒委陵菜、早熟禾和高山唐松草(吸收的铵态氮占总吸收氮量的 25%~27%). 矮嵩草草甸豆科植物共生固氮量对地上部分氮含量的贡献率是 7.48%~9.26%. 我们的研究证实, 高寒矮嵩草草甸有多种植物可以有效利用可溶性有机氮源特别是氨基酸, 而且不同的植物种之间在氮素吸收上存在多样化特点. 借此可以解释在速效氮为限制因子的高寒草甸生境中, 为什么能形成丰富的物种多样性, 植物又是如何高效利用限制性氮资源的.

致谢 感谢审稿专家提出的宝贵意见.

参考文献

- 1 Nadelhoffer K J, Giblin A E, Shaver G R, et al. Effects of temperature and substrate quality on element mineralization in six arctic soils. *Ecology*, 1991, 72: 242–253
- 2 Fisk M C, Schmidt S K. Nitrogen mineralization and microbial biomass nitrogen dynamics in three alpine tundra communities. *Soil Sci Soc Am J*, 1995, 59: 1036–1043
- 3 Kaye J P, Hart S C. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends Ecol Evol*, 1997, 12: 139–143
- 4 曹广民, 吴琴, 李东, 等. 土壤-牧草氮素供需状况变化对高寒草甸植被演替与草地退化的影响. *生态学杂志*, 2004, 23: 25–28
- 5 Chapin F S III, Moilanen L, Kielland K. Preferential usage of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal sedge. *Nature*, 1993, 361: 150–152
- 6 Henry H A L, Jefferies R L. Plant amino acid, soluble N turnover and microbial N capture in soils of a grazed Arctic salt marsh. *J Ecol*, 2003, 91: 627–636
- 7 Kielland K. Amino acid absorption by arctic plants: Implications for plant nutrient and nitrogen cycling. *Ecology*, 1994, 75: 2373–2383
- 8 Schimel J P, Chapin F S. Tundra plant uptake of amino acid and NH_4^+ nitrogen *in situ*: Plants compete well for amino acid N. *Ecology*, 1996, 77: 2142–2147
- 9 Nasholm T, Ekblad A, Nordin A, et al. Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature*, 1998, 392: 914–916
- 10 Persson J, Nasholm T. Amino acid uptake: A widespread ability among boreal forest plants. *Ecol Lett*, 2001, 4: 434–438
- 11 Raab T K, Lipson D A, Monson R K. Non-mycorrhizal uptake of amino acids by roots of the alpine sedge *Kobresia myosuroides*: Implications for the alpine nitrogen cycle. *Oecologia*, 1996, 108: 488–494
- 12 Lipson D A, Nasholm T. The unexpected versatility of plants: Organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems. *Oecologia*, 2001, 128: 305–316
- 13 Miller A E, Bowman W D. Alpine plants show species-level differences in the uptake of organic and inorganic nitrogen. *Plant Soil*, 2003, 250: 283–292
- 14 Nordin A, Schmidt I K, Shaver G R. Nitrogen uptake by arctic soil microbes and plants in relation to soil nitrogen supply. *Ecology*, 2004, 85: 955–962
- 15 Xu X L, Ou Y H, Cao G M, et al. Nitrogen deposition and carbon sequestration in alpine meadows. *Biogeochemistry*, 2004, 71: 353–369
- 16 Xu X L, Ou Y H, Cao G M, et al. Uptake of organic nitrogen by eight dominant plant species in *Kobresia* meadows. *Nutr Cycl Agroecosys*, 2004, 69: 5–10
- 17 Miller A E, Bowman W D, Suding K N. Plant uptake of inorganic and organic nitrogen: Neighbor identity matters. *Ecology*, 2007, 88:

- 1832–1840
- 18 Jones D L, Healey J R, Willett V B, et al. Dissolved organic nitrogen uptake by plants—An important N uptake pathway. *Soil Biol Biochem*, 2005, 37: 413–423
 - 19 McKane R B, Johnson L C, Shaver G R. Resource-based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in arctic tundra. *Nature*, 2002, 415: 68–71
 - 20 Nadelhoffer K J, Shaver G R, Fry B. ¹⁵N natural abundance and N use by tundra plants. *Oecologia*, 1996, 107: 386–394
 - 21 周兴民. 中国嵩草草甸. 北京: 科学出版社, 2001
 - 22 张金霞, 曹广民. 高寒草甸生态系统氮素循环. *生态学报*, 1999, 19: 509–513
 - 23 Makarov M I. The nitrogen isotopic composition in soils and plants: Its use in environmental studies (a review). *Eurasian Soil Sci*, 2009, 42: 1335–1347
 - 24 刘俊英. 高寒草甸土壤氮素及优势物种对土壤氮素的吸收研究. 硕士学位论文. 西宁: 青海师范大学, 2010
 - 25 Weintraub M N. Nutrient dynamics in the arctic tundra of Alaska. Doctoral Thesis. Santa Barbara: University of California, 2004
 - 26 Raab T K, Lipson D A, Monson R K. Soil amino acid utilization among species of the cyperaceae: Plant and soil processes. *Ecology*, 1999, 80: 2408–2419
 - 27 Ghani A, Dexter M, Carran R A, et al. Dissolved organic nitrogen and carbon in pastoral soil: The New Zealand experience. *Eur J Soil Sci*, 2007, 58: 832–843
 - 28 Lipson D A, Raab T K, Schmidt S K, et al. Variation in competition abilities of plants and microbes for specific amino acids. *Biol Fert Soils*, 1999, 29: 257–261
 - 29 Jacot A J, Luscher A, Nosberger J, et al. The relative contribution of symbiotic N₂ fixation and other nitrogen sources to grassland ecosystems along an altitudinal in the Alps. *Plant Soil*, 2000, 225: 201–211
 - 30 Solheim B, Zielke M, Bjerke W J, et al. Effects of enhanced UV-B radiation on nitrogen fixation in arctic ecosystems. *Plant Ecol*, 2006, 182: 109–118